

УДК 577.112.85+616-005.3-08

## Роль фібронектину за дії доксорубіцину

Я.В. Бабець<sup>1</sup>, А.О. Петрушенко<sup>1</sup>, А.І. Шевцова<sup>2</sup>, Г.О. Ушакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпропетровськ, Україна

<sup>2</sup>Державний заклад «Дніпропетровська медична академія», Дніпропетровськ, Україна

Досліджено рівень фібронектину у моделі доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії та ефекту цього цитостатика на фібронектин разом з антиоксидантами різної природи. Отримані дані вказують на те, що розвиток пошкоджень серця за дії доксорубіцину супроводжується зниженням концентрації загального білка, підвищенням рівня фібронектину в плазмі крові щурів та його зниженням у гомогенаті серцевого м'язу. Застосування доксорубіцину протягом 4 тижнів спільно з 1%  $\alpha$ -кетоглутаратом у питній воді або корвітином (5 мг/кг перед введенням доксорубіцину) суттєво не запобігає зміні вказаних параметрів. За впливу доксорубіцину зниження концентрації фібронектину в серці корелює зі зниженням концентрації загального білка у плазмі крові та серцевому екстракті, що свідчить про порушення анаболічної частини метаболізму білків за дії даного антибіотика.

*Ключові слова:* доксорубіцин; фібронектин; загальний білок; кардіопатія

## Role of fibronectin under conditions of doxorubicin action

Y.V. Babets<sup>1</sup>, A.O. Petrushenko<sup>1</sup>, A.I. Shevtsova<sup>2</sup>, G.A. Ushakova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, Dnipropetrovsk, Ukraine

<sup>2</sup>“Dnipropetrovsk Medical Academy” State Enterprise, Dnipropetrovsk, Ukraine

There is no standard as to treatment of anthracycline chemotherapy complications. The reduction of cytotoxic drugs toxicity without weakening of their antitumor action remains relevant. The extracellular matrix which key component is fibronectin is present in all tissues and it continuously undergoes controlled remodeling. So, the purpose of our work was to study the level of fibronectin in the experimental model of doxorubicin-induced cardiomyopathy and effects of this cytostatic and its co-administration with antioxidants of different nature. The level of fibronectin was measured by ELISA using monospecific antibodies against fibronectin (Sigma, USA), secondary anti-IgG labeled with horseradish peroxidase (Sigma, USA) and fibronectin standard (Sigma, USA). The study was conducted on Wistar male rats with weight of  $210 \pm 50$  g which were divided into 4 groups by 8 animals in each group: 1 – control, rats receiving saline i/p; 2 – doxorubicin 1 mg/kg i/p once a week during 4 weeks; 3 – doxorubicin by the same scheme plus 1% 2-oxoglutarate in drinking water during 4 weeks; 4 – doxorubicin by the same scheme and korvotin injection 30 min before doxorubicin application once a week during 4 weeks. Obtained data indicate the effect of doxorubicin to decrease in index mass heart in 38% of animals compared to control animals; decrease in total protein concentration by 8% ( $P < 0,05$ ) and increase of the level of fibronectin by 67% ( $P < 0,001$ ) in blood plasma of rats and decrease in the level of fibronectin in the heart extract by 19% ( $P < 0,05$ ) under development of doxorubicin-induced cardiotoxicity. Increased fibronectin concentration in blood plasma had strong correlation with decreased total protein concentration in blood ( $r = 0,80$ ) and heart extract ( $r = 0,59$ ) in rats with doxorubicin-induced cardiomyopathy indicating the sensitive reaction of fibronectin to development of metabolic disorders under doxorubicin influence.

*Keywords:* doxorubicin; fibronectin; total protein; cardiomyopathy

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ, 49010, Україна  
Oles Honchar Dnipropetrovsk National University, pr. Gagarina, 72, Dnipropetrovsk, 49010, Ukraine

Державний заклад «Дніпропетровська медична академія», вул. Дзержинського, 9, Дніпропетровськ, 49044, Україна  
State Establishment “Dnipropetrovsk Medical Academy”, Dzerzhinsky str., 9, Dnipropetrovsk, 49044, Ukraine  
Tel.: +38-097-789-66-43. E-mail: kristabxx@yandex.ru

Позаклітинний матрикс – динамічна структура, присутня в усіх тканинах, яка безперервно проходить контрольоване ремоделювання. Під час розвитку будь-яких патологій склад міжклітинного матриксу зазнає значних змін (Tiwarī et al., 2013). Ключовий білок екстрацелюлярного матриксу фібронектин у тканині за фізіологічних умов забезпечує суттєві зв'язки через інтегрини та інші рецептори, сприяє клітинній адгезії, міграції та диференціації (Schwarzbaueand et al., 2011), також бере участь у здійсненні захисних реакцій організму (Kelsh et al., 2014). Фібронектиновий матрикс – складна мережа полімеризованих волокон, які зазнають великих перебудов під час розвитку та відновлення тканин, а також за прогресування більшості захворювань (Kelsh et al., 2014). Фібронектин бере участь у канцерогенезі, модулюючи формування судин та ріст пухлини за рахунок регуляції кількості васкулярного ендотеліального фактора росту (VEGF) (Naci, 2012; von Au et al., 2013), стійкості пухлинних клітин до лікувальних агентів. На основі властивостей фібронектину зараз розглядається можливість створення лікувальних агентів, коли фібронектин є мішенню для доставки фактора некрозу пухлин до новоутворень (Hemmerle et al., 2013).

Ефективне лікування пухлин антрацикліновими препаратами обмежується тяжкістю побічних ефектів на здорові тканини та органи, найважчим серед яких вважається пошкодження тканин серця з подальшим розвитком серцевої дисфункції, кардіоміопатії, що в кінцевому підсумку призводить до важкої серцевої недостатності та смерті (Zhang et al., 2009). Механізми, відповідальні за доксорубіцин-індуковану кардіотоксичність, не повністю з'ясовані, але вже відомо, що доксорубіцин індукує окисний стрес, порушення мітохондріальної та ядерної ДНК, активацію апоптозу, некрозу тощо (Distefano, 2009; Strigun et al., 2012; Babets et al., 2013).

Нині немає ніяких стандартів лікування ускладнень антрациклінової хіміотерапії, тому питання про зменшення токсичності цих цитостатиків без значного зниження їх протипухлинної дії залишається актуальним. Природні антиоксиданти, які не мають потенційно шкідливого впливу на організм пацієнта, можна вважати терапевтичними та профілактичними. До таких речовин можна віднести корвітин (водорозчинна форма біофлавоноїду кверцетину) і  $\alpha$ -кетоглутарат (метаболіт циклу трикарбонних кислот). Перший має антиоксидантну активність, другий безпосередньо впливає на енергетичний метаболізм клітин. Поряд із тим,  $\alpha$ -кетоглутарат може виступати як детоксикант активних форм кисню та аміаку, тобто має антиоксидантні властивості. Невідомо, як ці агенти впливають на метаболізм фібронектину в серці та крові під час застосування антрациклінових препаратів (Gordienko et al., 2014).

Отже, мета нашої роботи – визначити рівень фібронектину в плазмі крові та екстракті серця за умов експериментальної моделі доксорубіцин-індукованої кардіоміопатії та ефекту цього цитостатика разом з антиоксидантами різної природи.

**Тварини.** Дослідження проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар вагою  $210 \pm 50$  г. Тварин поділено на чотири групи по 8 особин у кожній. Тварин утримували у віварії ДЗ «Дніпропетровська медична академія» у стандартних умовах із вільним споживанням води та їжі протягом усього експериментального періоду. Всі експериментальні протоколи та поводження з тваринами схвалені місцевим етичним комітетом (Дніпропетровськ, Україна).

**Модель доксорубіцин-індукованої кардіотоксичності.** До першої групи увійшли контрольні тварини, які отримували ін'єкції фізіологічного розчину. У другій групі щурам вводили внутрішньочеревинно доксорубіцин у дозі 1 мг/кг один раз на тиждень протягом чотирьох тижнів. Третя група отримувала доксорубіцин за такою самою схемою, як і друга група, та водний розчин 1%  $\alpha$ -кетоглутарату у питній воді протягом усього експерименту. Щодня тварини третьої групи вживали 43 мл питної рідини на 1 кг ваги. Четверта група тварин отримувала внутрішньочеревинно ін'єкції корвітину (Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод, Україна) у дозі 5 мг/кг за 30–60 хв до введення доксорубіцину за наведеною схемою. Після закінчення п'ятого тижня експерименту всіх тварин декапітували з використанням тіопенталу натрію в дозі 60 мг/кг згідно з вимогами Міжнародної конвенції з правил гуманного поводження з дослідними тваринами.

**Імуноферментний аналіз.** Із тканин серцевого м'яза виділяли цитозольну фракцію білків. Спочатку тканину гомогенізували у співвідношенні 1 : 10 у буфері А (трис-НСІ – 25 мМ; рН 7,4; ЕДТО – 1 мМ; дитіотреїтол 0,01%, суміш протеазних інгібіторів – 2 мМ), після чого центрифугували за 20 000 g протягом 60 хв, супернатант відокремлювали для подальшого аналізу. Рівень фібронектину вимірювали за допомогою імуноферментного аналізу з використанням моноспецифічних антитіл проти фібронектину (Sigma, США), вторинних анти-IgG, мічених пероксидазою хрому (Sigma, США) та очищеного фібронектину як стандарту (Sigma, США). Вимірювання проводили за допомогою імуноферментного рідера Antos 2010 (Фінляндія) за 492 нм. Концентрацію загального білка визначали методом Бредфорд (Bradford et al., 1976).

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням t-критерію Стьюдента. Вірогідними вважали результати при  $P < 0,05$ .

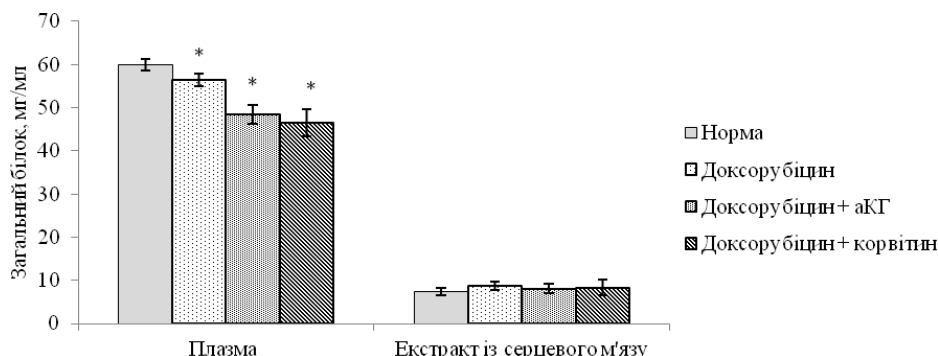
## Результати та їх обговорення

У даному дослідженні визначено зниження маси серця щурів з  $1,3 \pm 0,3$  г у контрольних тварин до  $1,2 \pm 0,1$  за умов дії доксорубіцину 1 мг/кг щотижня протягом чотирьох тижнів, а у перерахунку на вагу тіла індекс маси серця за дії доксорубіцину знижувався на 38% ( $P < 0,05$ ) і склав  $4,6 \cdot 10^{-3}$  порівняно з контрольними щурами, індекс маси серця яких склав  $7,5 \cdot 10^{-3}$ . Застосування як  $\alpha$ -кетоглутарату, так і корвітину протягом дії доксорубіцину викликало запобігання зниження індексу маси серця на 8% ( $P = 0,06$ ) за дії  $\alpha$ -кетоглутарату та на 13% ( $P < 0,05$ ) за дії корвітину. Раніше було встановлено, що у разі введення доксорубіцину у дозі 7 мг/кг відбувалось

значне зниження маси серця вже через два тижні після застосування препарату (Lushnikova et al., 2011). У нашому дослідженні встановлено, що вже за дози доксорубіцину 1 мг/кг ваги один раз на тиждень тривалістю чотири тижні маса серця у щурів вірогідно знижувалася.

За умов впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів встановлено вірогідне зниження концентрації

загального білка в плазмі крові дослідних тварин на 8% ( $P < 0,05$ ,  $55,9 \pm 1,9$  мг/мл) (рис. 1). Антиоксидантні препарати на фоні дії доксорубіцину не зумовлювали досягнення рівня загального білка в плазмі крові дослідних щурів. В екстрактах із серцевого м'яза тварин усіх досліджуваних груп не визначено вірогідних змін концентрації загального білка як за дії доксорубіцину, так і спільно з антиоксидантними речовинами (рис. 1).

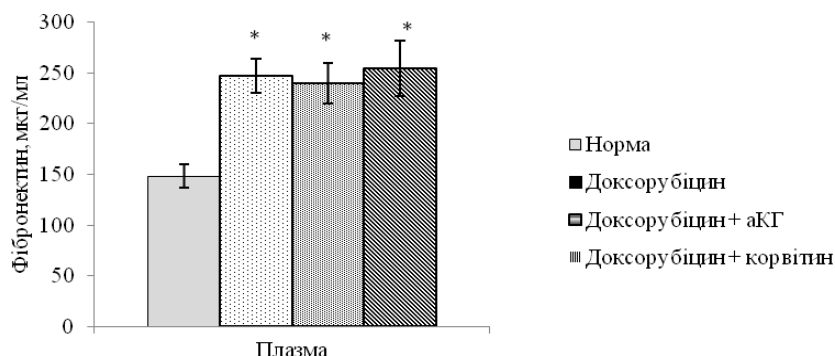


**Рис. 1.** Концентрація загального білка в плазмі крові та екстракті із серцевого м'язу щурів за нормальних умов, впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та  $\alpha$ -кетоглутарату (1% у питній воді протягом чотирьох тижнів) або доксорубіцину та корвітіну (5 мг/кг за 30–60 хв до уведення доксорубіцину):  $n = 8$ , \* –  $P < 0,05$

Інша картина спостерігалася під час визначення співвідношення фібрoneктину до загального білка у плазмі крові (Ф/ЗБ). Цей індекс збільшувався на 79% за умов уведення щурам доксорубіцину до  $4,7 \cdot 10^{-3}$  ( $P < 0,05$ ) відносно контрольної групи –  $2,5 \cdot 10^{-3}$ . За спільного уведення доксорубіцину та антиоксидантів цей індекс не змінювався та залишався на рівні  $5 \cdot 10^{-3}$  за дії кетоглутарату та  $5,3 \cdot 10^{-3}$  за дії корвітіну. Загальний білок плазми крові – один з основних показників гомеостазу

крові. Зниження його рівня та підвищення індексу Ф/ЗБ свідчить про порушення метаболізму білків, викликане застосуванням доксорубіцину у дозі 1 мг/кг ваги протягом чотирьох тижнів.

Визначаючи рівень фібрoneктину у плазмі крові дослідних щурів, установили, що за уведення доксорубіцину у дозі 1 мг/кг ваги тіла один раз на тиждень протягом чотирьох тижнів рівень фібрoneктину збільшився на 67% ( $P < 0,05$ ) і склав  $247,2 \pm 16,4$  мкг/мл (рис. 2).



**Рис. 2.** Концентрація фібрoneктину у плазмі крові щурів за нормальних умов, впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та  $\alpha$ -кетоглутарату (1% у питній воді протягом чотирьох тижнів) або доксорубіцину та корвітіну (5 мг/кг за 30–60 хв до уведення доксорубіцину):  $n = 8$ , \* –  $P < 0,05$

У нашому дослідженні в умовах застосування антиоксидантів спільно з доксорубіцином рівень фібрoneктину залишався підвищеним на 61% ( $P < 0,05$ ,  $239,7 \pm 20,3$  мкг/мл) у випадку дії  $\alpha$ -кетоглутарату та на 71% ( $p < 0,05$ ,  $253,9 \pm 27,3$  мкг/мл) за дії доксорубіцину та корвітіну відносно нормальних показників ( $148,4 \pm 11,6$  мкг/мл).

Плазматичний фібрoneктин синтезується у печінці та не містить EDA домену. Клітини тканин, у першу чергу

фібробласти, полімеризують клітинний фібрoneктин плазми у стромальному матриксі, однак, у відповідь на пошкодження або під час хвороби, резидентні клітини синтезують клітинний фібрoneктин, який альтернативно сплайсингований і включає додаткові домени, EDA і EDB. Типи III домену EDA і EDB (EIIIА і EIIIВ), вірогідніше за все, беруть участь у складанні матриці, клітинній адгезії, міграції та диференціації, а також у

процесі клітинного циклу та мітогенній передачі сигналу (Aziz-Seible et al., 2011). Інші типи I та II домену стабільніші за рахунок наявності дисульфідних зв'язків усередині домену фібронектину та більше відповідають за цілісність фібронектинового матриксу (Kelsh et al., 2014). Під час розвитку серця, EDA і EDB фібронектин експресуються в дорзальній аорті, фарингіальних артеріях і ендокарді (Xie et al., 2010; Lockhart et al., 2011). Механізми регуляції рівня фібронектину в плазмі крові мало зрозумілі, проте відомо, що концентрація фібронектину за нормального стану показує низький рівень. Під час травми або хвороби (Aziz-Seible et al., 2011), у тому числі серця (Konstandin et al., 2013; Tiwari et al., 2013) його рівень підвищується. Хоча й однозначно позитивної відповіді щодо діагностичної значимості рівня фібронектину донині немає (Nadashkevich et al., 1999), його все ж використовують як діагностичний маркер деяких процесів пошкодження серця (Konstandin et al., 2013; Tiwari et al., 2013).

Фібронектин – полідоменний і поліфункціональний білок, що зв'язується з колагеном екстрацелюлярного матриксу, взаємодіє з гепарином, імуноглобулінами та іншими лігандами та забезпечує адгезію типу клітина – матрикс через інтегрінові рецептори на поверхні клітин. За впливу ушкоджувальних факторів у матриксу зв'язування фібронектину з рецептором викликає вмикання сигнальних механізмів, що регулюють клітинну проліферацію, виживання, диференціацію та ремоделювання матриксу. Клітинний сигнальний шлях активується у відповідь на надмірні механічні сигнали та фрагменти фібронектину (Tamura et al., 2000; Aziz-Seible et al., 2011). За умов патологічних станів посилюється деградація фібронектину, утворюються його фрагменти, які генерують сигнал через  $\alpha 5 \beta 1$  інтегрини, активуючи прозапальну та прокатаболічну відповідь, що може спричинювати подальше пошкодження матриксу.

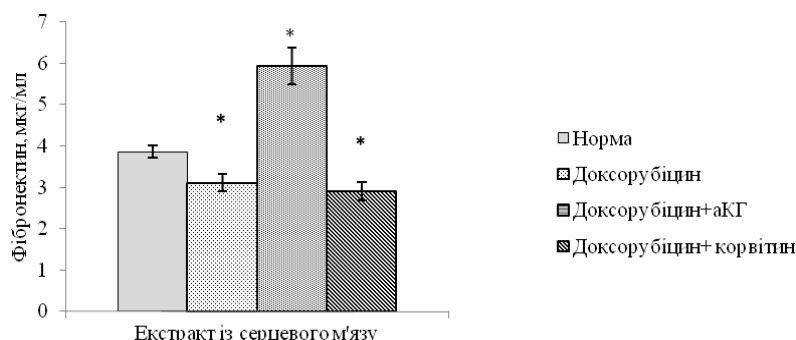
У разі порушення роботи серця, яке сприяє розвитку гіпоксії та активації матриксних металопротеїназ, що показано нами раніше (Gordienko et al., 2014), може відбуватися підвищення ступеня деградації та, як наслідок, кількості фрагментів та рівня фібронектину у плазмі крові (Xie et al., 2010), що і підтверджується в нашому дослідженні. Фібронектинова матриця чутлива

до протеаз, які звільняють біологічно активні фрагменти з матриці і тим самим регулюють клітинну адгезію, апоптоз і вивільнення запальних медіаторів і протеаз (Kelsh et al., 2014). Фібронектин може деградуватися матриксними металопротеїназами (Horstmann et al., 2003; Xie et al., 2010), а фрагменти фібронектину можуть бути субстратом для матриксних металопротеїназ (ММП-7, ММ-9) (Loeser et al., 2014). Також доведено можливість регуляції експресії фібронектину декількома мікроРНК (Rutnam et al., 2013) і здатність ангіотензину II активувати транскрипцію гена фібронектину через рецептор AT1 шляхом активації AP-1 у судинних клітинах гладеньких м'язів (Tamura et al., 2000).

Фібронектин існує у двох формах: розчинний, що синтезується у печінці та секретується у плазму, та клітинний (тканинний), що безпосередньо синтезується та виділяється на прикріплених клітинах, таких як клітини гладеньких м'язів та фібробластів (Michel et al., 2009). Тканинний фібронектин швидше за плазмовий (розчинний) реагує на метаболічні зміни тканин (Wang et al., 2013).

Цікава картина спостерігалася під час визначення концентрації фібронектину в екстракті серцевого м'яза (рис. 3). У деяких тварин за дії доксорубіцину відбувається зниження рівня фібронектину на 19% ( $P < 0,05$ , до  $3,11 \pm 0,21$  мкг/мл). За спільної дії  $\alpha$ -кетоглутарату та доксорубіцину, навпаки, відмічалася підвищення рівня фібронектину на 53% ( $P < 0,05$ , до  $5,93 \pm 0,45$  мкг/мл) відносно контрольної групи. Після ін'єкцій корвітину та дії доксорубіцину рівень фібронектину залишався низьким ( $2,91 \pm 0,23$  мкг/мл).

У критичний термін перебігу хвороби (Erturk et al., 2014) або за хронізації патології, наприклад, при ушкодженні печінки та втраті функцій нормальних гепатоцитів, відмічається низький рівень фібронектину (Levitan et al., 1999; Erturk et al., 2014). У серці фібронектин залучається для мобілізації кардіоміоцитів та їх інтеграції в місці ушкодження (Wang et al., 2013). Експресія клітинного фібронектину макрофагами та фібробластами максимально індукується під час проліферативної фази загоєння за умов інфаркту міокарда (Dobaczewski et al., 2009).



**Рис. 3. Концентрація фібронектину в екстракті серцевого м'яза у щурів за нормальних умов, впливу доксорубіцину протягом чотирьох тижнів (1 мг/кг тіла один раз на тиждень) та спільного застосування доксорубіцину та  $\alpha$ -кетоглутарату (1% у питній воді протягом чотирьох тижнів) або доксорубіцину та корвітину (5 мг/кг за 30–60 хв до введення доксорубіцину): n = 8, \* –  $P < 0,05$**

Раніше ми підтвердили, що за умов тривалого впливу доксорубіцину у дозі 1 мг/кг тіла щотижня протягом

чотирьох тижнів розвивається кардіопатія (Gordienko et al., 2012). Порушення роботи серця спричинює розвиток

гіпоксії, за якої відбувається каскад біохімічних порушень: втрата АТФ, порушення метаболізму глюкози та транспорту кисню, розлад роботи клітинних мембран, активація фосфоліпази, що викликає ліполізу, вивільнення арахідонової кислоти, глутамату та інших токсичних нейротрансмітерів, що забезпечують активацію прозапальних шляхів, активацію металопротеїназ і підвищення рівня фібронектину у плазмі крові.

Пошкодження тканин серця за вже розвиненої доксорубіцин-індукованої патології (яка підтверджена гістологічними зрізами (Gordienko et al., 2012)), сприяє зниженню рівня загального білка в плазмі крові та екстракті серцевого м'яза, яке має тісний кореляційний зв'язок ( $r = 0,80$  та  $0,59$  відповідно) зі зниженням рівня фібронектину в екстракті з серцевого м'яза. Що саме спричинює зниження фібронектину, донині не зрозуміло, проте вважають, що зниження концентрації фібронектину відбувається за рахунок вивільнення плазмового та тканинного фібронектину із тканини серця за рахунок активації протеаз і деградації екстрацелюлярного матриксу у відповідь на пошкодження (Lutay et al., 2004; Dobaczewski et al., 2009).

Згідно з літературними даними (Yan et al., 2014), діюча речовина корвітину – кверцетин – запобігає підвищенню рівня фібронектину, наприклад, у моделі фіброзу нирок, при якому індуковано дисліпідемію. Також раніше показано, що кверцетин інгібує експресію фібронектину у фібробластах «келоїдного» походження (Phan et al., 2003).

Підвищення концентрації фібронектину в екстракті серцевого м'яза за спільної дії доксорубіцину та  $\alpha$ -кетоглутарату поки що не зрозуміле, хоча літературні джерела вказують, що застосування антиоксидантних препаратів викликає зменшення рівня фібронектину до нормальних значень за різного роду патологій (Liu et al., 2014; Yan et al., 2014). У нашому дослідженні використані дози антиоксидантів (корвітину та  $\alpha$ -кетоглутарату) на фоні дії доксорубіцину не запобігали як підвищенню рівня фібронектину в плазмі крові, так і зміні рівня фібронектину в екстракті серцевого м'яза, хоча часткове відновлення серцевого м'яза за дії обох антиоксидантів було показано раніше (Gordienko, 2012), де за дії корвітину спостерігався найбільш виражений репаративний ефект на серце на фоні токсичної дії доксорубіцину.

## Висновки

При доксорубіцин-індукованій кардіоміопатією у щурів спостерігаються різноспрямовані зміни загально-го пулу білків у плазмі крові та серці: у плазмі крові знижується концентрація загального білка на фоні підвищення рівня фібронектину, а у серцевому м'язі рівень фібронектину зменшується на тлі практично незмінної концентрації загального білка. Застосування доксорубіцину протягом чотирьох тижнів спільно з 1%  $\alpha$ -кетоглутаратом у питній воді або корвітином (5 мг/кг перед уведенням доксорубіцину) суттєво не запобігає зміні вказаних параметрів.

## Бібліографічні посилання

- Von Au, A., Vasel, M., Kraft, S., Sens, C., Hackl, N., Marx, A., Stroebel, P., Hennenlotter, J., Todenhöfer, T., Stenzl, A., Schott, S., Sinn, H.P., Wetterwald, A., Bermejo, J.L., Cecchini, M.G., Nakchbandi, I.A., 2013. Circulating fibronectin controls tumor growth. *Neoplasia* 15(8), 925–938.
- Aziz-Seible, R.S., Casey, C.A., 2011. Fibronectin: Functional character and role in alcoholic liver disease. *World J. Gastroenterol.* 17(20), 482–499.
- Baklanova, Y.V., Ushakova, G.A., 2013. Toxichni effecti ta biochemichnyi control' naslidkiv antraciklinovoi terapii [Toxic effects and biochemical control of anthracycline therapy consequence]. *Archives of Clinical and Experimental Medicine* 22(2), 242–248 (in Ukrainian).
- Distefano, G., 2009. Molecular pathogenetic mechanisms and new therapeutic perspectives in anthracycline-induced cardiomyopathy. *Ital. J. Pediatr.* 35(1), 1–8.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Dobaczewski, M., Gonzalez-Quesada, C., Frangogiannis, N.G., 2009. The extracellular matrix as a modulator of the inflammatory and reparative response following myocardial infarction. *J. Mol. Cell Cardiol.* 48(3), 504–511.
- Erturk, A., Cure, E., Ozkurt, Z., Parlack, E., Cure, M.C., 2014. Serum fibronectin levels in acute and chronic viral hepatitis patients. *Malays. J. Med. Sci.* 21(1), 29–36.
- Gordienko, Y.A., Baklanova, Y.V., Kovalenko, M.V., Stepchenko, L.M., Shevtsova, A.I., Ushakova, G.A., 2012. Zmini fiziologichnykh ta biochimichnykh pokaznykiv y wchuriv z doxorubicin-indukovanou kardiomiopatieu na tli zastosuvannz preparative z antioxiidantnou dieu [Changes of physiological and biochemical parameters in rats with doxorubicin-induced cardiopathy under influence of substances with antioxidant action]. *The Animal Biology* 14, 74–79 (in Ukrainian).
- Gordienko, Y.A., Shevtsova, A.I., Babets, Y.V., Ushakova, G.A., Kulinich, A.O., 2014. Aktivnist' tripsinopodibnykh enzimiv ta gelatinas u wchuriv z doxorubicinovou kardiomiopatieu [Activity of trypsin-like enzymes and gelatinases in rats with doxorubicin cardiomyopathy]. *Ukr. Biochem. J.* 86(6), 139–146 (in Ukrainian).
- Hemmerle, T., Probst, P., Giovannoni, L., Green, A.J., Meyer, T., Neri, D., 2013. The antibody-based targeted delivery of TNF in combination with doxorubicin eradicates sarcomas in mice and confers protective immunity. *Br. J. Cancer.* 109(5), 1206–1213.
- Horstmann, S., Kalb, P., Kozio, H., Gardner, H., Wagner, S., 2003. Profiles of matrix metalloproteinases, their inhibitors, and laminin in stroke patients: Influence of different therapies. *Stroke* 34, 2165–2170.
- Kelsh, R., You, R., Horzempa, C., Zheng, M., McKeown-Longo, P.J., 2014. Regulation of the innate immune response by fibronectin: Synergism between the III-1 and EDA domains. *Plos One* 9(7), 1–11.
- Konstandin, M.H., Toko, H., Gastelum, G.M., Quijada, P., De La Torre, A., Quintana, M., Collins, B., Din, S., Avitabile, D., Völkens, M., Gude, N., Fässler, R., Sussman, M.A., 2013. Fibronectin is essential for reparative cardiac progenitor cell response after myocardial infarction. *Circ. Res.* 113(2), 115–125.
- Levitani, B.N., Astachin, A.B., 1999. Diagnosticheskoe i prognosticheskoe znachenie plasmennogo fibronektina pri chronicheskikh diffusnykh zabolovaniyakh pecheni [The diagnostic and prognostic importance of liver disease chronic diffuse]. *Rossiyskiy Gastroenterologicheskii Zhurnal* 3, 34–60 (in Russian).

- Liu, J., Zeng, L., Zhao, Y., Zhu, B., Ren, W., Wu, C., 2014. Selenium suppresses lipopolysaccharide-induced fibrosis in peritoneal mesothelial cells through inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition. *Biol. Trace Elem. Res.* 161(2), 202–209.
- Lockhart, M., Wrigg, E., Phelps, A., Wessels, A., 2011. Extracellular matrix and heart development. *Birth Defects Res. A Clin. Mol. Teratol.* 91(6), 535–550.
- Loeser, R.F., 2014. Integrins and chondrocyte-matrix interactions in articular cartilage. *Matrix. Biol.* 39C, 11–16.
- Lushnikova, E.L., Nepomnyachix, L.M., Molodich, N.A., Klinnikova, M.G., Molodich, O.P., 2011. Strukturnaya reorganizatsia miokarda kris i chislennost' kardiomiocitov pri deystvii doksorubicina i triterpenoidov [Structural reorganization of the rat myocardium and cardiomyocyte number under influence of doxorubicin and triterpenoids]. *Fundamentalniye Issledovaniya* 6, 98–102 (in Russian).
- Lutay, N.V., Brazluk, A.Z., Peleshenko, A.I., Shevtsova, A.I., 2004. Obchwaya rol' fibronectina v norme i pri patologii [General organization of fibronectins and their role in norm and pathology]. *Biopolym. Cell.* 20(5), 402–409.
- Michel, J.-B., 2003. Anoikis in the cardiovascular system known and unknown extracellular mediators. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23(12), 2146–2154.
- Naci, D., Azreq, E., Chetoui, N., Lauden, L., Sigaux, F., Charon, D., Daccak, R., Aoudjit, F., 2012.  $\alpha 2\beta 1$  Integrin promotes chemoresistance against doxorubicin in cancer cells through extracellular signal-regulated kinase (ERK). *J. Biol. Chem.* 287(21), 17065–17076.
- Nadashkevich, O.N., 1999. Immunologichni pokazniki u chvorich na sistemnu sklerodermiu [Immunological parameters in patients with systemic sclerosis]. *Practychna Medicina* 5–6, 22–24 (in Ukrainian).
- Phan, T.T., Lim, I.J., Sun, L., Chan, S.Y., Bay, B.H., 2003. Quercetin inhibits fibronectin production by keloid-derived fibroblasts. Implication for the treatment of excessive scars. *J. Dermatol. Sci.* 33(3), 192–194.
- Rutnam, Z.J., Wight, T.N., Yang, B.B., 2013. miRNAs regulate expression and function of extracellular matrix molecules. *Matrix Biol.* 32(2), 74–85.
- Schwarzbauerand, J.E., De Simone, D.W., 2011. Fibronectins, their fibrillogenesis, and in vivo functions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 3(7), 1–19.
- Strigun, A., Wahrheit, J., Niklas, J., Heinze, E., Noor, F., 2012. Doxorubicin increases oxidative metabolism in HL-1 cardiomyocytes as shown by  $^{13}\text{C}$  metabolic flux analysis. *Toxicol. Sci.* 125(2), 595–606.
- Tamura, K., Chen, Y.E., Lopez-Illasaca, M., Daviet, L., Tamura, N., Ishigami, T., Akishita, M., Takasaki, I., Tokita, Y., Pratt, R.E., Horiuchi, M., Dzau, V.J., Umemura, S., 2000. Molecular mechanism of fibronectin gene activation by cyclic stretch in vascular smooth muscle cells. *J. Biol. Chem.* 275(44), 34619–34627.
- Tiwari, S., Mishra, M., Jadhav, A., Gerger, C., Lee, P., Weber, L., 2013. The risk of heart failure and cardiometabolic complications in obesity may be masked by an apparent healthy status of normal blood glucose. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2013, 1–16.
- Wang, J., Karra, R., Dickson, A.L., Poss, K.D., 2013. Fibronectin is deposited by injury-activated epicardial cells and is necessary for zebrafish heart regeneration. *Dev. Biol.* 382(2), 427–435.
- Xie, L., Terrand, J., Xu, B., Tsapralis, G., Boyer, J., Chen, Q.M., 2010. Cystatin C increases in cardiac injury: A role in extracellular matrix protein modulation. *Cardiovasc. Res.* 87(4), 628–635.
- Yan, Y., Feng, Y., Li, W., Ping Che, J.I., 2014. Protective effects of quercetin and hyperoside on renal fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction. *Exp. Ther. Med.* 8, 727–730.
- Zhang, Y., Shi, J., Li, Y., Wei, L., 2009. Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Arch. Immunol. Ther. Exp.* 57(6), 435–445.

Надійшла до редколегії 12.02.2015